

Протокол № 267

заседания диссертационного совета 24.2.288.07 по защите
от 05.04.2023 г.

Состав диссертационного совета утвержден в количестве 27 человек.
Присутствовали на заседании 18 человек.

Председатель: д.хим.наук, профессор Семенов Виктор Николаевич.

Присутствовали: д.хим.наук, профессор Семенов Виктор Николаевич, д.хим.наук, профессор Шихалиев Хидмет Сафарович, к.хим.наук, доцент Столповская Надежда Владимировна, д.хим.наук, профессор Бутырская Елена Васильевна, д.хим.наук, профессор Ермолаева Татьяна Николаевна, д.хим.наук, доцент Завражнов Александр Юрьевич, д.хим.наук, доцент Зяблов Александр Николаевич, д.хим.наук, доц. Кострюков Виктор Федорович, д.хим.наук, доц. Крысин Михаил Юрьевич, д.хим.наук, профессор Кучменко Татьяна Анатольевна, д.хим.наук Потапов Андрей Юрьевич, д.хим.наук, профессор Рудаков Олег Борисович, д.хим.наук, доцент Тутов Евгений Анатольевич, д.хим.наук, профессор Селеменов Владимир Федорович, д.хим.наук, д.хим.наук, профессор Шапошник Алексей Владимирович, д.хим.наук, профессор Шапошник Владимир Алексеевич, д.хим.наук, профессор Шаталов Геннадий Валентинович, д.хим.наук, доцент Шестаков Александр Станиславович.

Официальные оппоненты по диссертации:

Медянцева Эльвина Павловна – доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», химический институт им. А.М. Бутлерова – отсутствует по уважительной причине – есть официальное письмо, положительный отзыв получен;

Суханов Павел Тихонович, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры физической и аналитической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий» – присутствует.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный университет", г. Краснодар – положительный отзыв получен.

Слушали: защиту диссертационной работы Шинко Евгении Ивановны «Применение пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе гибридных углеродных материалов для определения антибиотиков», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия. Стенограмма прилагается.

В обсуждении диссертационной работы приняли участие: д.хим.н, проф. Рудаков О.Б., д.хим.н. проф. Селеменов В.Ф., д.хим.н., проф. Кучменко Т.А.

Вопросы задали: д.хим.н. проф. Шапошник А.В., д.хим.н., проф. Рудаков О.Б., д.хим.н., проф. Кучменко Т.А., д.хим.н., проф. Бутырская Е.В.

Постановили: на основании протокола №1 счетной комиссии считать, что диссертация Шинко Евгении Ивановны отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Результаты голосования:

«за» – 18,

«против» – нет,

«недействительных бюллетеней» – нет.

По результатам обсуждения работы принято следующее заключение:

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

24.2.288.07, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНОБРНАУКИ РОССИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 05.04.2023 г. № 267

О присуждении Шинко Евгении Ивановне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата химических наук.

Диссертация «Применение пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе

гибридных углеродных материалов для определения антибиотиков» по специальности 1.4.2. Аналитическая химия принята к защите 01 февраля 2023 г. (протокол заседания № 265) диссертационным советом 24.2.288.07, созданным на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России, 394018, Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, д. 1, в соответствии с приказом Минобрнауки России № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Шинко Евгения Ивановна, 20 июня 1993 года рождения, работает инженером-технологом в ООО «Черкизово-Масла».

В 2016 г. окончила специалитет металлургического института федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Липецкий государственный технический университет».

В 2020 году окончила очную аспирантуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Липецкий государственный технический университет».

Диссертация выполнена на кафедре химии металлургического института федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Липецкий государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор химических наук, профессор Ермолаева Татьяна Николаевна, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Липецкий государственный технический университет», металлургический институт, кафедра химии, профессор.

Официальные оппоненты:

1. Медянцева Эльвина Павловна, доктор химических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», химический институт им. А.М. Бутлерова, кафедра аналитической химии, профессор;

2. Суханов Павел Тихонович, доктор химических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий», факультет экологии и химической технологии, кафедра физической и аналитической химии, профессор

- дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный университет", г. Краснодар, в своем положительном отзыве, подписанном Темердашевым Зауалем Ахлоовичем, доктором химических наук, профессором, заведующим кафедрой аналитической химии, указала, что диссертация Шинко Евгении Ивановны является законченной научно-квалификационной работой на актуальную тему, соискателем решены задачи по разработке пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе гибридных углеродных материалов для высокочувствительного определения лекарственных веществ в пищевой продукции, биологических жидкостях и фармацевтических препаратах. Рассматриваемая диссертационная работа по объему, актуальности, уровню полученных научных и практических результатов соответствует критериям, установленным п.9-п.14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.2. Аналитическая химия.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 13 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ. Работы посвящены изучению процессов формирования устойчивого распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе углеродных нанотрубок после их активации; апробации разработанных пьезоэлектрических иммуносенсоров для анализа модельных смесей лекарственных веществ и реальных объектов – биологических жидкостей, пищевых продуктов и фармацевтических препаратов. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах. Вклад автора – 80%. Объем – 5 п.л.

Наиболее значительные работы:

1. Determination of the fluoroquinolones levofloxacin and ciprofloxacin by a piezoelectric immunosensor modified with multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) / E.I. Shinko, O.V. Farafonova, I. A. Shanin, S. A. Eremin, T. N. Ermolaeva // Analytical Letters. – 2022. – Vol.55. – No.7. – P.1164-1177.

2. Применение углеродных нанотрубок для повышения чувствительности определения антибиотиков с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора / Е.И. Шинко, О.В. Фарафонова, Т.Н. Ермолаева // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2021. – Т.87. - №12. – С. 11-16.

3. Активация углеродных нанотрубок для повышения эффективности аффинного взаимодействия на поверхности пьезоэлектрического сенсора при определении антибиотиков / Е.И. Шинко, О.В. Фарафонова, К.В. Шестопалов, Т.Н. Ермолаева // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2019. - Т.19. - №3. – С. 334-343.

На диссертацию и автореферат поступило 7 отзывов: 1) Дмитриенко Станислава Григорьевна, д.х.н., проф., профессор кафедры аналитической химии, Апяри Владимир Владимирович, д.х.н., проф., главный научный сотрудник ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; 2) Шеховцова Татьяна Николаевна, д.х.н., проф., профессор кафедры аналитической химии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; 3) Решетилев Анатолий Николаевич, д.х.н., проф., заведующий лабораторией биосенсоров, Плеханова Юлия Викторовна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биосенсоров Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН; 4) Доронин Сергей Юрьевич, д.х.н., проф., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии, Косырева Ирина Владимировна, к.х.н., доцент кафедры аналитической химии и химической экологии ФГБОУ ВО «СГУ им. Н.Г. Чернышевского»; 5) Дзантиев Борис Борисович, д.х.н., проф., руководитель отдела лиганд-рецепторных взаимодействий и биосенсорики, заведующий лабораторией иммунобиохимии ФИЦ Биотехнологии РАН; 6) Стожко Наталия Юрьевна, д.х.н., проф., заведующая кафедрой физики и химии ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»; 7) Зиятдинова Гузель Камилевна, д.х.н., доц., профессор кафедры аналитической химии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Все отзывы положительные. Замечания носят рекомендательный характер.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается наличием публикаций в области аналитической химии и способностью определить актуальность, достоверность, научную новизну и значимость результатов диссертационной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

– **разработаны** иммуносенсоры на основе гибридных углеродных материалов для определения антибиотиков в различных режимах (статическом и проточно-инжекционном) и форматах (прямом и конкурентном) иммуноанализа.

– **предложен** способ формирования устойчивого распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе углеродных нанотрубок с карбоксильными, аминными, тиольными, фторсодержащими группами.

– **доказано** влияние способа окисления, температуры и продолжительности обработки окислителем наноматериалов на концентрацию кислородосодержащих функциональных групп, обеспечивающих образование ковалентных связей углеродных нанотрубок (УНТ) со слоем модификатора электрода сенсора и иммунореагентом.

– **представлены** и обоснованы концентрации иммунореагентов, обеспечивающие максимальный сигнал иммуносенсора при определении аминогликозидных, фторхинолоновых антибиотиков, тетрациклина, полимиксина, колхицина и рактопамина.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

– **доказаны** закономерности формирования устойчивого распознающего слоя пьезоэлектрического иммуносенсора на основе углеродных нанотрубок после активации их поверхности за счет карбоксилирования, аминирования, фторирования, тиолирования.

– **применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс современных физико-химических методов исследования: пьезокварцевое микровзвешивание, ИК-спектроскопия, атомно-силовая микроскопия.

– **изложен** способ включения золотых наночастиц ($d=4$ нм), иммобилизованных на тиолированных углеродных материалах, способствующий увеличению активной поверхности распознающего слоя сенсора и снижению предела обнаружения.

– **раскрыта** закономерность расширения линейного диапазона определяемых концентраций лекарственных веществ в статическом режиме в прямом формате иммуноанализа.

– **проведена модернизация** способов окисления УНТ, а также комплексная сравнительная оценка изменения поверхности УНТ после окисления для дальнейшего их включения в распознающий слой пьезоэлектрического сенсора.

– **изучена** возможность применения многостенных углеродных нанотрубок для существенного увеличения поверхностной концентрации распознающих

компонентов – антител или антигенов при формировании распознающего слоя массчувствительного пьезоэлектрического иммуносенсора.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

– **разработаны и внедрены** способы определения фторхинолонов, аминогликозидов, полимиксина, тетрациклина, рактопамина и колхицина с помощью пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе УНТ.

– **определены** аналитические характеристики (диапазон определяемых концентраций аналитов и предел обнаружения) пьезоэлектрического иммуносенсора для определения лекарственных веществ.

– **создана** система практических рекомендаций по последовательности и условиям формирования устойчивого многослойного покрытия пьезоэлектрического сенсора на основе функционализированных углеродных материалов, а также этапы проведения измерительных циклов в проточно-инжекционном и статическом режимах и регенерации биослоя.

– **представлены** наиболее устойчивые распознающие слои пьезоэлектрического сенсора, сформированные на основе карбоксилированных УНТ (35 циклов измерений в жидких средах).

Оценка достоверности результатов исследования выявила: достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и выводов диссертации обеспечена системностью исследования, применением современных физико-химических методов анализа, использованием сертифицированного оборудования, а также лицензионного или имеющего государственную регистрацию программного обеспечения. Аналитический сигнал сенсора регистрировали в статическом режиме на измерительной установке CPNA-330, ЗАО «ЭТНА». ИК-спектрометрические исследования окисленных УНТ и исходных наноматериалов осуществляли с применением ИК-спектрометра «Shimadzu I Raffinity-1». Исследование морфологии поверхности электрода и распознающего слоя сенсора проводили с помощью атомно-силового микроскопа SOLVER P47-Pro, ЗАО «Нанотехнология-МДТ», в режиме прерывистого контакта на воздухе с использованием кантилеверов NSGO 1/20, резонансной частотой сканирования в диапазоне 120-180 кГц. Поверхность обрабатывали с помощью фильтров программы

“NOVA”. Результаты соответствуют современным представлениям по рассматриваемой тематике и согласуются с другими экспериментальными данными, представленными в литературе.

Личный вклад соискателя состоит в участии в общей постановке задач исследования, систематизации литературных данных, подготовке, планировании и проведении экспериментальных исследований, обработке и интерпретации полученных результатов, их практической апробации, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

В ходе защиты были высказаны следующие критические замечания и заданы вопросы: 1) Верно ли, что углеродные нанотрубки – это промежуточный слой, на который уже иммобилизуются антитела? Какие преимущества углеродных нанотрубок в качестве промежуточного слоя по сравнению с теми способами иммобилизации антител, которые были получены ранее? 2) Уточните, по каким показателям сенсоры на основе УНТ превосходят полученные ранее? 3) Что Вы понимаете под словом «эффективно» окисленные нанотрубки? И какие функциональные группы Вы потом использовали для иммобилизации? 4) В чем выражалась степень эффективности? Какова степень покрытия поверхности УНТ кислородсодержащими группами? 5) Наблюдалось ли появление эпоксидных групп на поверхности УНТ? 6) Известно, что углеродные наноматериалы 13 лет применяются в пьезокварцевом микровзвешивании. Чем вызвана постановка достаточно серьёзно проработанного эксперимента модернизации УНТ, привития групп, когда известно, что продаются различные модифицированные УНТ? 7) Видно, что Вы проверяли сколько модифицированные иммуносенсоры могут работать – 35 циклов измерения. Как Вы оценивает стоимость изготовления, насколько это оправдано? 8) Как Вы удаляете подложку и повторно наносите слой? Известно, что тонкий золотой слой после углеродных наноматериалов повреждается. 9) Сколько партий, полученных Вами углеродных наноматериалов, Вы воспроизвели? Какова повторяемость результатов? Были ли повторы партий? 10) В Вашем случае аналитический сигнал включает в себя как взаимодействие с антителами, так и взаимодействие с нанотрубками. Разделяли ли Вы эти сигналы? Как разделить сигнал УНТ и антител? 11) Первое положение: «углеродные

нанотрубки образуют существенно более прочные связи с подложкой и молекулами иммунореагентов». Существенно более прочные по сравнению с чем?

Соискатель Шинко Е.И. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию: 1) Да, верно. Проводили сравнение с сенсорами, у которых распознающий слой формировался без углеродных нанотрубок, и с результатами, полученными альтернативными инструментальными методами. Показано, что в данной работе метрологические характеристики превосходят указанные способы. 2) На слайдах приведены пределы обнаружения гентамицина и колхицина с помощью сенсоров без УНТ, пределы обнаружения в данном случае выше, чем полученные нами. 3) УНТ окисляли для того, чтобы получить на их поверхности кислородосодержащие функциональные группы – гидроксильные, карбонильные, карбоксильные. Оценивали их появление методом ИК-спектроскопии. Чем больше образовывалось функциональных групп, тем большее количество УНТ возможно было закрепить на подложке. 4) Эффективность оценивалась методом пьезокварцевого микровзвешивания. 5) Появление данных групп не оценивалось. 6) Окисление проводилось для комплексной сравнительной оценки и дальнейшего включения в распознающий слой сенсора. Кроме того, выбирались условия окисления. 7) 35 циклов – это достаточно большое количество для одной подложки. УНТ обладают низкой стоимостью, иммунореагенты дорогостоящие, но используются очень маленькие объемы, что делает стоимость анализа минимальной. 8) На золотую поверхность сенсора наслаивается сначала модификатор-подложка и только потом УНТ. Подложка смывается, затем сенсор высушивается и проверяется его собственная частота колебаний. 9) Оценивали воспроизводимость сенсоров в пределах одной лаборатории в течение года. Воспроизводимость высокая, что показывают приведенные характеристики. 10) Слои наносятся последовательно, и масса каждого слоя измерялась отдельно. Соответственно, масса УНТ никак на массу антител не влияла. 11) Существенно более прочные по сравнению с исследованными ранее.

На заседании 05 апреля 2023 г. диссертационный совет принял решение за решение научной задачи по разработке пьезоэлектрических иммуносенсоров на основе гибридных углеродных материалов для определения антибиотиков,

имеющей значение для развития аналитической химии присудить Шинко Е.И. ученую степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 8 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 18, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного
совета 24.2.288.07



Семенов Виктор Николаевич

Ученый секретарь диссертационного
совета 24.2.288.07

Столповская Надежда Владимировна

05.04.2023 г.